

⑫ 公開特許公報(A)

昭61-294356

⑪ Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和61年(1986)12月25日

G 01 N 27/58
27/46B-7363-2G
A-7363-2G

審査請求 未請求 発明の数 1 (全4頁)

⑭ 発明の名称 バイオセンサ

⑮ 特 願 昭60-136424

⑯ 出 願 昭60(1985)6月21日

| | | | |
|---------|------------|---------------|-------------|
| ⑰ 発 明 者 | 河 栗 真 理 子 | 門真市大字門真1006番地 | 松下電器産業株式会社内 |
| ⑰ 発 明 者 | 南 海 史 朗 | 門真市大字門真1006番地 | 松下電器産業株式会社内 |
| ⑰ 発 明 者 | 飯 島 孝 志 | 門真市大字門真1006番地 | 松下電器産業株式会社内 |
| ⑱ 出 願 人 | 松下電器産業株式会社 | 門真市大字門真1006番地 | |
| ⑲ 代 理 人 | 弁理士 中尾 敏男 | 外1名 | |

明 細 書

1、発明の名称

バイオセンサ

2、特許請求の範囲

- (1) 絶縁性の基板に少なくとも測定極および対極からなる電極系と温度検知素子を設け、酸化還元酵素およびこの酵素と共役する酸化型色素を含んだ多孔体で前記電極系を覆ったことを特徴とするバイオセンサ。
- (2) 電極系が測定極、対極および参照極からなる特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。
- (3) 温度検知素子が絶縁層を介して測定極の近傍に設置されている特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。
- (4) 温度検知素子がサーミスタである特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

3、発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、生体試料中の特定成分を検知するバイオセンサに関するもので、このセンサは医療分

野や食品工学などに幅広く応用できる。

従来の技術

医療技術の進歩とともに、血液や尿中の特定成分を測定することにより健康のチェック、病気の状態、治療の効果などがわかるようになった。しかし、従来は病院の臨床検査室で大型の機械や複雑な手法を用いて検査しているため、時間や費用がかかるという問題があった。そこで、その場で簡易に精度よく測定できるセンサが望まれている。その1つの試みとして、本発明者らは酵素電極方式を用いたバイオセンサを提案している(例えば、特開昭59-166852)。第4図にその構成を示す。絶縁性の基板1に白金を埋設して測定極2、対極3、参照極4からなる電極系を構成している。さらに、電極系を覆うように多孔体5を設置する。この多孔体5に酸化還元酵素と酸化還元酵素と共役する酸化型色素を担持している。この多孔体5に血液などの生体試料を微量に滴下すると、試料中の基質が多孔体中の酸化還元酵素と反応して基質濃度に対応して酸化型色素が還元される。この

還元された色素を電極系で検知し、基質濃度を測定するものである。このセンサは、微量の試料を単に滴下するだけで基質濃度が短時間に測定できる。又、電極方式で測定するため、血液などの色の影響を受けず精度よく測定できる。

発明が解決しようとする問題点

従来例において、温度の影響について検討した結果、酵素反応速度および還元された色素が電極へ拡散する速度を温度が左右することが判明した。酵素反応については、酸化還元酵素及び酸化型色素を高濃度に担持させて基質との反応をすみやかに進め終了させることで、温度の影響を少なくすることができた。しかし、電極への拡散速度は温度に依存するため温度を検知し、補正することが必要である。一般に酵素反応を利用した測定法では、温度の影響を除去するために、恒温槽を用いる場合が多いが、大きな装置を必要とするため簡単に測定できなくなり、また恒温になるまでに時間もかかる。

問題点を解決するための手段

役する酸化型色素としてフェリシアン化カリウムが各々担持されている。

この多孔体5に血液などの試料を滴下すると、試料中のグルコースがグルコースオキシダーゼにより酸化され、酵素-色素共役反応によりフェリシアン化カリウムが還元されてフェロシアン化カリウムが生成する。このフェロシアン化カリウムを、参照極6を基準に測定極4の電圧を0~+0.1Vの間で鋸歯状に0.1V/秒で掃引することにより酸化すると酸化電流が流れる。この酸化電流は生成したフェロシアン化カリウムの濃度に比例し、さらにこの変化量は基質濃度に対応するため、電流値を測定するとグルコース濃度が検出できる。この時、流れる電流のピーク値を測定して、応答電流とした。温度による補正方法としてはあらかじめ、応答電流 γ と基質濃度 x の関係を温度 T を含んだ式で求めておく。この式に、得られた応答電流とサーミスタにより検知した温度を代入して基質濃度を求める。グルコース標準液をサンプルとして次のような実験を行なった。

そこで本発明は、温度を簡易にしかも短時間に検知するため、絶縁性の基板に形成された電極系の近傍、特に測定極の近くに温度検知素子を設置する。

作 用

設置された温度検知素子により短時間に温度が検知され、あらかじめ測定した温度と測定極の応答との関係から、得られた応答を温度補正することにより高精度の測定が可能となる。

実 施 例

第1図は、本発明のバイオセンサの一実施例であるグルコースセンサの構成を示す。温度検知素子としてサーミスタを用い、絶縁性の基板1に絶縁層6を有するサーミスタ7を埋設している。基板1の表面に白金をスパッタし、リードを接続して測定極2、対極3、参照極4としている。なお、測定極2はサーミスタ7の絶縁層6の上に形成した。この上に、ナイロン^不織布からなる多孔体5を設置した。この多孔体5には、酸化還元酵素としてグルコースオキシダーゼが、酸化還元酵素と共

まず、サンプルと周囲温度を25℃にして、くり返し測定を行なうと、変動係数CV値は1%と非常に精度よく測定できた。サンプルと周囲温度を10℃から30℃まで変えてくり返し測定すると、各温度でのCV値は1~2%であるが、全部を合わせたCV値は10%とかなりばらついた。しかし、サーミスタを用いて温度補正を行なうと、10℃~30℃までの得られた値のCV値が1%と高精度に測定ができた。さらに、周囲温度を25℃にして、サンプルの温度を10℃~30℃に変化させて測定したところ、温度による補正を行なわない場合はCV値6%とばらついたが、サーミスタが検知した温度により補正をかけると、サンプルの温度に影響されずCV値は1%であった。

以上よりサーミスタは、電極部の実際反応が進行する場所、特に測定極の付近に設置する必要があることが判明した。なぜなら、微小な面積上の反応のため、周囲温度だけでなく、サンプルの温度、さらには酵素および色素の溶解、反応の温度

変化が大きく影響すると思われるからである。

最近、サーミスタに直接酵素を固定化して、酵素反応による温度変化で基質濃度を測定しようという試みがある。しかし、変化温度が小さいためサーミスタの感度として0.001℃のオーダーが必要であり、さらに、周囲の温度の影響が大きいため、外部温度の制御が難しい。しかし、本発明の電極方式を用いれば、温度による応答電流の変化が小さいため、サーミスタの感度は0.1℃で充分であり、外部の温度の影響も受けにくい、温度制御の必要がない。

測定極の近傍にサーミスタを設置するには、第2図のようにサーミスタと測定極を並べて設置してもよいが、第1図のようにサーミスタと測定極が絶縁層を介して設置されている方が測定極とサーミスタの距離が短く、より高感度に温度が検知されるため、短時間に精度のよい測定ができる。さらに、第3図のように、サーミスタを被覆しているガラスなどの上に直接白金をスパッタして電極を形成すると小型で高感度なセンサを構成する

ことができる。サーミスタには、ビード型やディスタ型があるが、ビード型が小型なので、センサの小型化には好都合である。本発明の実施例においては、温度検知素子としてサーミスタを用いたが特に、これに限定されることはなく本発明の主旨に合致するものであれば良い。例えば、高感度な温度センサであるIC内蔵温度センサも用いることができる。

また、電極系としては、測定極、対極、参照極からなる3電極方式を用いた例について説明したが、測定極に比較して大面積の対極を設置することができれば、参照極を省くこともできる。使用可能な電極材料としては、実施例に示した白金に限定されることはなく、金などの貴金属、導電性金属酸化物、あるいはカーボンなども使用できる。

上記実施例におけるセンサはグルコースに限らず、アルコールセンサやコレステロールセンサなど、酸化還元酵素の関与する系に用いることができる。酸化還元酵素としてはグルコースオキシダーゼを用いたが、他の酵素たとえばアルコールオ

キシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ等も用いられる。

色素としては、上記実施例に用いたフェロシアン化カリウムが安定に反応するので適しているが、p-ベンゾキノンを使えば、反応速度が早いので高速化に適している。又、2,6-ジクロロフェノールインドフェノール、メチレンブルー、フェナジンメトサルフェート、β-ナフトキノン4-スルホン酸カリウムなども使用できる。

発明の効果

測定極の近傍にサーミスタを設置して温度補正をすることにより、高精度な測定が可能となった。

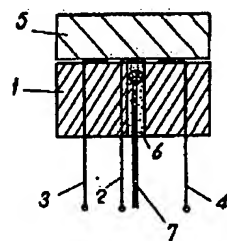
4、図面の簡単な説明

第1図、第2図および第3図は本発明の実施例のグルコースセンサの縦断面図、第4図は従来のバイオセンサの縦断面図である。

1……基板、2……測定極、3……対極、4……参照極、5……多孔体、6……絶縁層、7……サーミスタ。

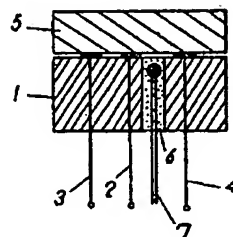
代理人の氏名 弁理士 中 尾 敏 男 ほか1名

第 1 図

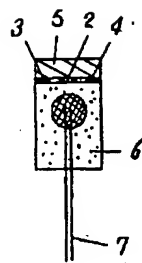


- 1…基板
- 2…測定極
- 3…対極
- 4…参照極
- 5…多孔体
- 6…絶縁層
- 7…サーミスタ

第 2 図



第 3 図



第 4 図

